

PCT/JP 2004/016805

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

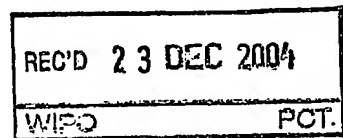
05.11.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 1 1 月 5 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 3 7 5 3 6 9
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 3 7 5 3 6 9]



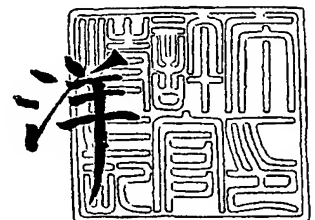
出 願 人 財団法人癌研究会
Applicant(s):

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 1 2 月 9 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 1 1 2 5 1 1

【書類名】 特許願
【整理番号】 PGK-0001
【提出日】 平成15年11月 5日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 C12Q 1/68
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人癌研究会ゲノムセンター内
 【氏名】 三木 義男
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人癌研究会ゲノムセンター内
 【氏名】 松浦 正明
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人癌研究会ゲノムセンター内
 【氏名】 磯村 実
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人癌研究会ゲノムセンター内
 【氏名】 宮田 敏
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人癌研究会内
 【氏名】 吉本 賢隆
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人癌研究会内
 【氏名】 野田 哲生
【特許出願人】
 【識別番号】 000173588
 【氏名又は名称】 財団法人癌研究会
【特許出願人】
 【識別番号】 500535301
 【氏名又は名称】 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム
【代理人】
 【識別番号】 230104019
 【弁護士】
 【氏名又は名称】 大野 聖二
 【電話番号】 03-5521-1530
【選任した代理人】
 【識別番号】 100106840
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 森田 耕司
 【電話番号】 03-5521-1530
【選任した代理人】
 【識別番号】 100105991
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 田中 玲子
 【電話番号】 03-5521-1530

【手数料の表示】

【予納台帳番号】

185396

【納付金額】

21,000円

【その他】

平成14年度新エネルギー・産業技術総合開発機構「遺伝子多様性モデル解析事業」委託研究、産業活力再生特別措置法第30条の適用を受ける特許出願

【提出物件の目録】

【物件名】

特許請求の範囲 1

【物件名】

明細書 1

【物件名】

要約書 1

【書類名】特許請求の範囲

【請求項1】

被験者におけるパクリタキセル療法による顆粒球減少症の発症のリスクを予測する方法であって、前記被験者から単離された遺伝子について、CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号7で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号8で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号9で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、およびBUB1b遺伝子中の配列番号10で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型からなる群より選択される1またはそれ以上の遺伝子多型を同定する工程を含む方法。

【請求項2】

被験者から単離された遺伝子が、以下の(a)～(e)：

- (a) CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがG/Gである；
- (b) CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがT/Tである；
- (c) CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがG/Gである；
- (d) CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがT/Tである；
- (e) CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがG/Gである；

のうち1またはそれ以上である場合に、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測する、請求項1記載の方法。

【請求項3】

被験者から単離された遺伝子が、以下の(f)～(j)：

- (f) CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/GまたはA/Aである；
- (g) CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがC/TまたはC/Cである；
- (h) CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/GまたはA/Aである；
- (i) CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/TまたはA/Aである；
- (j) CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/GまたはA/Aである；

のうち1またはそれ以上である場合に、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測する、請求項1記載の方法。

【請求項4】

被験者から単離された遺伝子が、以下の(A)～(E)：

- (A) BUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/Aである；
- (B) BUB1b遺伝子中の配列番号7で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがT/Tである；

(C) BUB1b 遺伝子中の配列番号 8 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが C/C である；

(D) BUB1b 遺伝子中の配列番号 9 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが C/C である；

(E) BUB1b 遺伝子中の配列番号 10 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが T/T である；

のうち 1 またはそれ以上である場合に、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

被験者から単離された遺伝子が、以下の (F) ~ (J)：

(F) BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが A/G または G/G である；

(G) BUB1b 遺伝子中の配列番号 7 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが G/T または G/G である；

(H) BUB1b 遺伝子中の配列番号 8 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが C/T または T/T である；

(I) BUB1b 遺伝子中の配列番号 9 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが C/T または T/T である；

(J) BUB1b 遺伝子中の配列番号 10 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが C/T または C/C である；

のうち 1 またはそれ以上である場合に、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

被験者におけるパクリタキセル療法による顆粒球減少症の発症のリスクを予測する方法であって、前記被験者から単離された遺伝子について、(1) CYP2C8 遺伝子中の配列番号 1 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8 遺伝子中の配列番号 2 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8 遺伝子中の配列番号 3 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8 遺伝子中の配列番号 5 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型からなる群より選択される 1 またはそれ以上の遺伝子多型を同定する工程、および (2) BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b 遺伝子中の配列番号 7 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b 遺伝子中の配列番号 8 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b 遺伝子中の配列番号 9 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型、および BUB1b 遺伝子中の配列番号 10 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型からなる群より選択される 1 またはそれ以上の遺伝子多型を同定する工程、を含む方法。

【請求項 7】

被験者におけるパクリタキセル療法による顆粒球減少症の発症のリスクを予測する方法であって、前記被験者から単離された遺伝子について、CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基および BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基における遺伝子多型を同定することを含む請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが T/T であり、かつ BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタイプが A/A または G/G であるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測する、請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基におけるジェノタ

イブがA/TまたはA/Aであり、かつBUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/Gであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測する、請求項7記載の方法。

【請求項10】

被験者におけるパクリタキセル療法による顆粒球減少症の発症のリスクを予測するための診断用キットであって、前記被験者から単離された遺伝子について、CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号7で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号8で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号9で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、およびBUB1b遺伝子中の配列番号10で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型からなる群より選択される1またはそれ以上の遺伝子多型を同定するための試薬を含有することを特徴とするキット。

【請求項11】

前記試薬が、

CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号7で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号8で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号9で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；および

BUB1b遺伝子中の配列番号10で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

からなる群より選択される 1 またはそれ以上の核酸分子である、請求項 10 記載の診断用キット。

【請求項 12】

前記試薬が、

(1) CYP2C8 遺伝子中の配列番号 1 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；CYP2C8 遺伝子中の配列番号 2 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；CYP2C8 遺伝子中の配列番号 3 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；および、CYP2C8 遺伝子中の配列番号 5 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子からなる群より選択される 1 またはそれ以上の核酸分子；および

(2) BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；BUB1b 遺伝子中の配列番号 7 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；BUB1b 遺伝子中の配列番号 8 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；BUB1b 遺伝子中の配列番号 9 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；および BUB1b 遺伝子中の配列番号 10 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子からなる群より選択される 1 またはそれ以上の核酸分子；

を含む、請求項 10 記載の診断用キット。

【請求項 13】

前記試薬が、

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；および

BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも 10 個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

を含む、請求項 10 記載の診断用キット。

【請求項 14】

前記試薬が、

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 1 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 2 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 3 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 5 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；
BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；
BUB1b 遺伝子中の配列番号 7 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；
BUB1b 遺伝子中の配列番号 8 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；
BUB1b 遺伝子中の配列番号 9 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；
BUB1b 遺伝子中の配列番号 10 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対。
からなる群より選択される 1 またはそれ以上のプライマー対である、請求項 10 記載の診断用キット。

【請求項 15】

前記試薬が、

(1) CYP2C8 遺伝子中の配列番号 1 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；CYP2C8 遺伝子中の配列番号 2 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；CYP2C8 遺伝子中の配列番号 3 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；および、CYP2C8 遺伝子中の配列番号 5 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；からなる群より選択される 1 またはそれ以上のプライマー対、および

(2) BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；BUB1b 遺伝子中の配列番号 7 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；BUB1b 遺伝子中の配列番号 8 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；BUB1b 遺伝子中の配列番号 9 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；BUB1b 遺伝子中の配列番号 10 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；からなる群より選択される 1 またはそれ以上のプライマー対；

を含む、請求項 10 記載の診断用キット。

【請求項 16】

前記試薬が、

CYP2C8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対；および

BUB1b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 11 番目の塩基を含む領域に対応する DNA を増幅するよう設計された PCR プライマー対

を含む、請求項 10 記載の診断用キット。

【書類名】明細書

【発明の名称】パクリタキセル療法による副作用を予測する方法およびキット

【技術分野】

【0001】

本発明は、遺伝子多型を同定することにより、パクリタキセル療法の副作用の一つである顆粒球減少症の発症のリスクを予測する方法、ならびにかかる方法を実施するための診断用キットに関する。

【背景技術】

【0002】

パクリタキセルは、タキソール（登録商標）などの名称でも知られるジテルペン誘導体のアルカロイドである。微小管蛋白重合を促進することにより微小管の安定化・過剰形成を引き起こし、紡錘体の機能を障害することにより細胞分裂を阻害する抗腫瘍剤であり、乳癌、卵巣癌、胃癌および非小細胞肺癌等の種々の癌の治療に広く用いられている。パクリタキセル療法 of 最適投与量および投与スケジュールについては、現在も種々の臨床試験が進行中である。パクリタキセル療法による副作用の主要なもの1つは顆粒球減少症であり、この副作用の発症のために投与量が制限されている。

【0003】

パクリタキセル療法による副作用を低下させる方法として、患者の遺伝子を分析することにより副作用を予測し、その薬剤の使用または投与量を決定する方法が研究されている。このような研究から、薬剤代謝に関連するか、あるいは薬剤活性と機能的に関連している遺伝子が、薬剤の副作用の発症の原因である可能性が明らかになった。例えば、チトクローム P 4 5 0 ファミリー等の薬剤代謝関連遺伝子におけるいくつかの cSNPs が、高い頻度でいくつかの薬剤の副作用と相関していることが示されている。しかし、これらの高リスク遺伝子多型のアレル頻度は比較的低いいため、大部分の患者について副作用を生ずる可能性を説明するには不十分である。したがって、パクリタキセル療法による副作用の発症と遺伝子多型との相関に関するさらなる研究が必要とされている。

【0004】

本発明に関連する先行技術文献情報としては以下のものがある。

【特許文献1】特開 2 0 0 3 - 9 3 0 6 8

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明の目的は、パクリタキセル療法における顆粒球減少症の発症の可能性を予測するための方法ならびにキットを提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、被験者から単離された遺伝子について、CYP 2 C 8 遺伝子中の配列番号 1 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、CYP 2 C 8 遺伝子中の配列番号 2 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、CYP 2 C 8 遺伝子中の配列番号 3 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、CYP 2 C 8 遺伝子中の配列番号 4 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、CYP 2 C 8 遺伝子中の配列番号 5 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、BUB 1 b 遺伝子中の配列番号 6 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、BUB 1 b 遺伝子中の配列番号 7 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、BUB 1 b 遺伝子中の配列番号 8 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、BUB 1 b 遺伝子中の配列番号 9 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型、および BUB 1 b 遺伝子中の配列番号 1 0 で規定される配列の 1 1 番目の塩基における遺伝子多型からなる群より選択される 1 またはそれ以上の遺伝子多型を同定する工程を含む、被験者におけるパクリタキセル療法による顆粒球減少症の発症のリスクを予測する方法を提供する。

【0007】

本発明の1つの態様においては、CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがG/Gであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、A/GまたはA/Aであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0008】

本発明の別の態様においては、CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがT/Tであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、C/TまたはC/Cであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0009】

本発明の別の態様においては、CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがG/Gであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、A/GまたはA/Aであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0010】

本発明の別の態様においては、CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがT/Tであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、A/TまたはA/Aであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0011】

本発明の別の態様においては、CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがG/Gであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、A/GまたはA/Aであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0012】

本発明の別の態様においては、BUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/Aであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、A/GまたはG/Gであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0013】

本発明の別の態様においては、BUB1b遺伝子中の配列番号7で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがT/Tであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、G/TまたはG/Gであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0014】

本発明の別の態様においては、BUB1b遺伝子中の配列番号8で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがC/Cであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、C/TまたはT/Tであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0015】

本発明の別の態様においては、BUB1b遺伝子中の配列番号9で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがC/Cであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、C/TまたはT/Tであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0016】

本発明の別の態様においては、BUB1b遺伝子中の配列番号10で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがT/Tであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測され、C/TまたはC/Cであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0017】

さらに本発明においては、本発明により同定されたSNPsの1またはそれ以上を任意に組み合わせ、顆粒球減少症の発症のリスクをより高い精度で予測することができる。後述の実施例に示されるように、特定のSNPsの組み合わせと顆粒球減少症の発症率との相関が特に高いことが見いだされた。すなわち、本発明は、被験者から単離された遺伝子について、CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基およびBUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型を同定することを含む、被験者におけるパクリタキセル療法による顆粒球減少症の発症のリスクを予測する方法を提供する。

【0018】

好ましくは、CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがT/Tであり、かつBUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/AまたはG/Gであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが高いと予測される。また好ましくは、CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/TまたはA/Aであり、かつBUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基におけるジェノタイプがA/Gであるときに、顆粒球減少症の発症のリスクが低いと予測される。

【0019】

さらに別の観点においては、本発明は、被験者におけるパクリタキセル療法による顆粒球減少症の発症のリスクを予測するための診断用キットを提供する。該キットは、被験者から単離された遺伝子について、CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号7で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号8で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、BUB1b遺伝子中の配列番号9で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型、およびBUB1b遺伝子中の配列番号10で規定される配列の11番目の塩基における遺伝子多型からなる群より選択される1またはそれ以上の遺伝子多型を同定するための試薬を含有することを特徴とする。

【0020】

本発明のキットに含有される試薬は、好ましくは以下の核酸分子から選択される1またはそれ以上の核酸分子である：

CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこ

れに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号7で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号8で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号9で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子；

BUB1b遺伝子中の配列番号10で規定される配列の11番目の塩基を含むかまたはこれに隣接する少なくとも10個の連続するヌクレオチド配列、またはこれに相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子。

【0021】

ここで、核酸分子が塩基を「含む」とは、核酸分子の配列中に標的とするSNP部位に対応する塩基が含まれていることを意味し、この塩基は核酸分子の内部に位置していても、5'末端または3'末端に位置していてもよい。このような核酸分子は、SNPのタイピングにおいて、ハイブリダイゼーションプローブ、TaqManプローブ等として用いることができる。さらに、本発明の核酸分子はSNP部位の周囲の領域とは無関係な配列をさらに含有していてもよい。このような核酸分子は、SNPのタイピングにおいて、インベーター法におけるプライマリープローブとして用いることができる。また、核酸分子が塩基に「隣接する」とは、核酸分子が、標的とするSNP部位に対応する塩基を含まないが、SNP部位に隣接する上流または下流の連続するヌクレオチド配列を含むことを意味する。配列番号1で規定される配列の11番目の塩基に「隣接する」配列の例は、配列番号1で規定される配列の1-10番目の塩基を含む配列であり、別の例は12-21番目の塩基を含む配列である。このような核酸分子は、SNPのタイピングにおいて、インベーター法におけるインベータープローブまたはMALDI-TOF/MS法およびプライマーエクステンション法におけるプライマーとして用いることができる。これらのプローブは、本発明の教示にしたがって、CYP2C8遺伝子またはBUB1b遺伝子の配列を参照することにより設計することができる。

【0022】

また好ましくは、本発明のキットに含有される試薬は、以下のプライマー核酸分子から選択される1またはそれ以上の核酸分子である：

CYP2C8遺伝子中の配列番号1で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；

CYP2C8遺伝子中の配列番号2で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；

CYP2C8遺伝子中の配列番号3で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；

CYP2C8遺伝子中の配列番号4で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；

CYP2C8遺伝子中の配列番号5で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；

BUB1b遺伝子中の配列番号6で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；

BUB1b遺伝子中の配列番号7で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応する

るDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；
BUB1b遺伝子中の配列番号8で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；
BUB1b遺伝子中の配列番号9で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対；
BUB1b遺伝子中の配列番号10で規定される配列の11番目の塩基を含む領域に対応するDNAを増幅するよう設計されたPCRプライマー対。

【0023】

これらのプライマー対は、種々のタイピング法において標的遺伝子を増幅するために用いることができる。これらのプライマー対は、本発明の教示にしたがって、CYP2C8遺伝子またはBUB1b遺伝子の配列を参照することにより設計することができる。増幅のための好適なプライマー対の設計方法は当該技術分野においてよく知られている。

【発明を実施するための最良の形態】

【0024】

本発明においては、パクリタキセル療法による副作用と関連する遺伝子多型を検索するため、まず薬剤代謝関連遺伝子ならびに薬理学的にパクリタキセルの作用機序に関連する遺伝子298個を選定した。次にこれら298個の遺伝子内に存在するSNPsをJSNPデータベース上で検索を行い、2,727個のSNPsを抽出した。パクリタキセルを投与した54名の乳癌患者の末梢血からDNAを抽出し、SNPsのタイピングを行ったところ、後述の実施例に示されるように、CYP2C8遺伝子内にマップされた5個のSNP (IMS-JST111898 (配列番号1)、IMS-JST105874 (配列番号2)、IMS-JST082397 (配列番号3)、IMS-JST071852 (配列番号4)、IMS-JST071853 (配列番号5))、ならびにBUB1b遺伝子内にマップされた5個のSNP (IMS-JST074538 (配列番号6)、IMS-JST079837 (配列番号7)、IMS-JST044164 (配列番号8)、IMS-JST063023 (配列番号9)、IMS-JST042569 (配列番号10))について、顆粒球減少症の発症との相関が見いだされた。

【0025】

なお、上記のIMS-JST番号は、JSNPデータベース (<http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/>) におけるエントリー番号であり、NCBIのdbSNPデータベースをはじめとする各種データベースから検索することができる。本明細書においては、本発明において見いだされたこれらのSNPsの位置をより明確に示すために、ゲノム配列中の当該SNP部位およびその前後各10塩基を含む配列をそれぞれ配列番号1-10として示し、これらの配列番号を参照してSNPsを表している。後にシーケンサーや新たな多型が発見されることにより、これらの配列番号に示される塩基配列の一部が変動するかもしれないことは、当業者には明らかであろう。

【0026】

CYP2C8 (チトクロームP450, ファミリー2, サブファミリーC, ポリペプチド8) は、種々の薬物の代謝に関与するチトクロームP450であり、染色体位置10q23.33にマップされている。パクリタキセルの代謝は主に肝細胞において行われ、代謝物は胆汁中に排泄される。パクリタキセルの解毒化にはCYP2C8による加水分解能が重要な働きをしており、これによりパクリタキセルが解毒化された6 α -ヒドロキシパクリタキセルに分解される。このため、CYP2C8蛋白質がパクリタキセルの血中濃度の決定に重要な働きをしていることが考えられる。このことはCYP2C8が副作用とも関連している可能性を示唆している。CYP2C8遺伝子にはいくつかのcSNPがあることが知られている。例えば、アミノ酸の置換を伴う5箇所のcSNPのうち一つ(416G→A)は、パクリタキセルの代謝速度がワイルドタイプに比べて遅くなることが知られている。しかし、日本人を対象としたアレル頻度の解析研究において、これらのcSNPsの頻度は極めて低いことが知られている。実際、本発明において実施したタイピングにおいても54検体から1196A→Gの変異アレルが一つ見つかったのみである。これらのことからCYP2C8遺伝子に存在する既知のcSNPsはパクリタキセルの顆粒球減少症にはほとんど関与していないことが示唆される。本発明により見いだされたSNPsは、未知のメカニズムで顆粒球減少症と関連しているものと考えられる。

【0027】

BUB1b遺伝子は、出芽酵母において有糸分裂のチェックポイントに関連しているBUB遺伝子のホモログであり、染色体位置15q15にマップされている。パクリタキセルの抗腫瘍効果は微小管の重合を促進させることにより発揮され、微小管がパクリタキセルの標的分子である。これらのことは、BUB1b遺伝子とパクリタキセルの薬理作用が、機能的な面で関連があることを示唆している。

【0028】

本発明において、パクリタキセル療法による副作用との相関が見いだされたSNPsの位置および多型の情報を以下の表に示す。

【0029】

【表1】

| |
|--|
| IMS-JST111898 |
| General Information |
| JSNP ID : IMS-JST111898 |
| dbSNP ID(rs#) : 1557044 |
| dbSNP ID(ss#) : 4944611 |
| HGVbase ID : SNP000830254 |
| Organism : Homo sapiens |
| Molecular type: Genomic |
| Allele Sequence |
| Variation Type : SNP |
| Flanking Sequence Information |
| 5' Assay : AAAAAGAAAG GTCAAGGCAG GAGCCTCAGC TCAGGAGAAG AAACAAGGAG CAGAGCAAGG |
| Observed : A/G |
| 3' Assay : CAACTGTTTC TCAAGGAATA AAATTATTGC TCTAAAGAGA GAAAGTGAAC TTATTTTATC |

【0030】

【表2】

| |
|--|
| IMS-JST105874 |
| General Information |
| JSNP ID : IMS-JST105874 |
| dbSNP ID(rs#) : 3752988 |
| dbSNP ID(ss#) : 4939017 |
| HGVbase ID : |
| Organism : Homo sapiens |
| Molecular type: Genomic |
| Allele Sequence |
| Variation Type : SNP |
| Flanking Sequence Information |
| 5' Assay : CAAATTCCCC ATGTGTCCAA AAAAAATCAG CATGGATGAA ATAAACACAT TACTTTTACC |
| Observed : T/C |
| 3' Assay : TAAATATGAG TTGAGCATT AAGGCTAGCT AAACAATGTC ATTCGCATG TGGTTATTCA |

【0031】

【表 3】

IMS-JST082397
General Information
JSNP ID : IMS-JST082397
dbSNP ID(rs#) : 1891071
dbSNP ID(ss#) : 4923304
HGVBbase ID :
Organism : Homo sapiens
Molecular type: Genomic
Allele Sequence
Variation Type : SNP
Flanking Sequence Information
5' Assay : TTGATGACAC AATTAAAAT GACATCTTG TACAATGGAG GAGGATGACA GAGATCAGTA
Observed : A/G
3' Assay : AAACAGTATG GCAGTAGCAA AATAAGTAAA GCACTGATGA AGTGTCTGGA TTTCAGCAAA

【 0 0 3 2 】

【表 4】

IMS-JST071852
General Information
JSNP ID : IMS-JST071852
dbSNP ID(rs#) : 2275620
dbSNP ID(ss#) : 3211768
HGVBbase ID : SNP001282389
Organism : Homo sapiens
Molecular type: Genomic
Allele Sequence
Variation Type : SNP
Flanking Sequence Information
5' Assay : CTCATCCCCA AGGTAAGCTT GTTCTCTTA CACTATATT CTGTACTTCT GAAATTTCCA
Observed : T/A
3' Assay : AGTGCTGGTT TGGTTCCAAC CCTCTAACAA CACAAGATGA GAGAAGTGCA AAATCATAC

【 0 0 3 3 】

【表 5】

IMS-JST071853
General Information
JSNP ID : IMS-JST071853
dbSNP ID(rs#) : 1934951
dbSNP ID(ss#) : 3211769
HGVbase ID : SNP001276002
Organism : Homo sapiens
Molecular type: Genomic
Allele Sequence
Variation Type : SNP
Flanking Sequence Information
5' Assay : TTTTGGAAAT TAGTTGGAAT TTACATGGCA CCTCCTCTGG GGCTGGTAGA ATTGCTATTT
Observed : G/A
3' Assay : TCCATGATCA AGAGCACCAC TCTTAACACC CATGTGCTCC ACCCTCACAA TACACCATCA

【 0 0 3 4 】

【表 6】

IMS-JST074538
General Information
JSNP ID : IMS-JST074538
dbSNP ID(rs#) : 2277559
dbSNP ID(ss#) : 3214454
HGVbase ID : SNP001383307
Organism : Homo sapiens
Molecular type: Genomic
Allele Sequence
Variation Type : SNP
Flanking Sequence Information
5' Assay : TTTGAAACTT GGCGGCTAGG GGTGTGGGCT TGAGGTGGCC GGTTTGTTAG GGAGTCGTGT
Observed : A/G
3' Assay : CGTGCCCTGG TCGCTTCTGT AGCTCCGAGG GCAGGTTCGG GAAGAAAGCC CAGGCGGTCT

【 0 0 3 5 】

【表 7】

IMS-JST079837
General Information
JSNP ID : IMS-JST079837
dbSNP ID(rs#) : 3214012
dbSNP ID(ss#) : 4474916
HGVbase ID :
Organism : Homo sapiens
Molecular type: Genomic
Allele Sequence
Variation Type : SNP
Flanking Sequence Information
5' Assay : TAAATGTCTT CCGAAAGGTG ATTATTCATG GTCTTGGGTT GAATATAGTG GACTGACACA
Observed : T/G
3' Assay : AATTATTATT ATTATTATAT GCCTAAGCTT CTTTGTTAGC TGTTTTTCAA GTTTATGGCT

【0036】

【表 8】

IMS-JST044164
General Information
JSNP ID : IMS-JST044164
dbSNP ID(rs#) : 1801376
dbSNP ID(ss#) : 3234079
HGVbase ID :
Organism : Homo sapiens
Molecular type: Genomic
Allele Sequence
Variation Type : SNP
Flanking Sequence Information
5' Assay : CCCACCCTTA ATAATTCCCA CTTCAAATA TCCAAAACC AACTCACAT AACTGGCTGT
Observed : C/T
3' Assay : GTGCAGTCTC TTCCACATAT GGAGTGAAAC TGGGAAGCAC AGCGGGTACA GCTATCAGTG

【0037】

【表 9】

IMS-JST063023
 General Information
 JSNP ID : IMS-JST063023
 dbSNP ID(rs#) : 2305653
 dbSNP ID(ss#) : 3252938
 HGVbase ID : SNP001383945
 Organism : Homo sapiens
 Molecular type: Genomic
 Allele Sequence
 Variation Type : SNP
 Flanking Sequence Information
 5' Assay : TCTTCAAGAC AACCAGATAA ATTAATCAAT ATTTTGTGTT GTTTGAAAGC AGGAAGGCAA
 Observed : C/T
 3' Assay : CTGTTTTTTT AATAACAAAA AGCTTCAAAC ATATAAAAGG TCATTAAACA ATTTACCAAT

【0038】

【表 10】

IMS-JST042569
 General Information
 JSNP ID : IMS-JST042569
 dbSNP ID(rs#) : 2290551
 dbSNP ID(ss#) : 3232484
 HGVbase ID : SNP001383051
 Organism : Homo sapiens
 Molecular type: Genomic
 Allele Sequence
 Variation Type : SNP
 Flanking Sequence Information
 5' Assay : AGGCCATGAA AGAAGCTGCA TAGCTGGTCT TAAAAAAGG AAGGTACCTT GGGTACATCT
 Observed : T/C
 3' Assay : AGCTATGCCA ACAACTCCCT CCAGTGGTTA ATTTTGAAAA TGCACCTGTA AGACAGAGCA

【0039】

本発明の方法においては、パクリタキセルによる治療が計画されているか、あるいはパクリタキセルを投与されている被験者から末梢血液、他の体液、細胞、組織等を採取し、これらの試料から定法によりゲノムDNAを調製する。必要な場合には、タイピングすべき部位の配列を増幅する。遺伝子多型のタイピングは、当該技術分野において知られるかまたは開発されつつある種々の方法のいずれかを用いて容易に行うことができる。タイピング方法の例としては、直接シーケンス法、インペーダー法、TaqMan法、MALDI-TOF/MS法、プライマーエクステンション法およびハイブリダイゼーション法等が挙げられるが、これらに限定されない。

【0040】

直接シーケンス法を用いる場合には、SNP部位を含む領域のDNAをPCRにより

増幅し、このPCR産物の配列を直接シーケンスすることにより、SNPを同定することができる。

【0041】

インベダー法を用いる場合には、SNP部位から3'側に特異的な配列を含むインベダープローブと、テンプレートのSNP部位から5'側に特異的な配列および無関係なフラップ配列を含むプライマリープローブとを用意する。これらのプローブと、フラップと相補的な配列と自己相補的な配列を含み蛍光色素とクエンチャーとの両方で標識されているFRETプローブ、およびテンプレートの存在下でクリベースを作用させる。プライマリープローブがテンプレートとハイブリダイズすると、SNP部位にインベダープローブの3'末端が侵入し、この構造がクリベースにより切断されてフラップが遊離する。フラップはFRETプローブと結合して、クリベースにより蛍光色素部分が切断されて、蛍光が発生する。フラップ-FRETプローブを2組用意し、異なる蛍光色素で標識することにより、1回のアッセイで各ホモ接合体とヘテロ接合体とを区別することができる。

【0042】

TaqMan法を用いる場合には、蛍光色素とクエンチャーにより標識したアレル特異的プローブを標的部位にハイブリダイズさせて、この部位を含む領域を増幅するように設計したプライマーでPCR反応を行う。プライマーからの伸長反応が進むと同時に、Taq DNAポリメラーゼの5'エキソヌクレアーゼ活性により、ハイブリダイズしたプローブが切断される。蛍光色素がクエンチャーと離れると蛍光が生じ、これを検出することによりSNPを同定することができる。

【0043】

MALDI-TOF/MS法を用いる場合には、SNP部位に隣接するプライマーを作成し、PCR増幅させたサンプルDNAを鋳型として、ddNTPを用いて1塩基分だけプライマー伸長を行う。伸長反応生成物をMALDI-TOF/MSで質量分析することにより、付加したddNTPを識別する。

【0044】

ハイブリダイゼーション法を用いる場合には、SNP部位を含む領域のDNAをPCRにより増幅し、SNP部位に特異的なプローブを用いてハイブリダイゼーションにより増幅産物を検出する。さらに、これらの方法に加えて、RFLP法、DNAチップ法、分子ビーコン法、ライゲーション法などの種々の方法が開発されており、本発明においてはこれらのいずれをも用いることができる。

【0045】

本発明の方法にしたがえば、本発明において同定されたSNP部位の1またはそれ以上についてタイピングを行い、後述の実施例において示される統計データを参照して、パクリタキセル療法による副作用の発症のリスクを予測することができる。本発明の方法は、好ましくはモンゴロイドに、特に好ましくは日本人に適用される。より好ましくは、本発明において同定されたCYP2C8遺伝子中のSNPと、BUB1b遺伝子中のSNPについてタイピングを行い、これらの結果を組み合わせることにより、パクリタキセル療法による副作用の発症のリスクを予測する。そのような組み合わせの例としては、IMS-JST111898 (配列番号1)とIMS-JST074538 (配列番号6)、IMS-JST111898 (配列番号1)とIMS-JST079837 (配列番号7)、IMS-JST111898 (配列番号1)とIMS-JST044164 (配列番号8)、IMS-JST111898 (配列番号1)とIMS-JST063023 (配列番号9)、IMS-JST111898 (配列番号1)とIMS-JST042569 (配列番号10)、IMS-JST105874 (配列番号2)とIMS-JST074538 (配列番号6)、IMS-JST105874 (配列番号2)とIMS-JST079837 (配列番号7)、IMS-JST105874 (配列番号2)とIMS-JST044164 (配列番号8)、IMS-JST105874 (配列番号2)とIMS-JST063023 (配列番号9)、IMS-JST105874 (配列番号2)とIMS-JST042569 (配列番号10)、IMS-JST082397 (配列番号3)とIMS-JST074538 (配列番号6)、IMS-JST082397 (配列番号3)とIMS-JST079837 (配列番号7)、IMS-JST082397 (配列番号3)とIMS-JST044164 (配列番号8)、IMS-JST082397 (配列番号3)とIMS-JST063023 (配列番号9)、IMS-JST082397 (配列番号3)とIMS-JST042569 (配列番号10)、IMS-JST071852

(配列番号 4) と IMS-JST074538 (配列番号 6)、IMS-JST071852 (配列番号 4) と IMS-JST079837 (配列番号 7)、IMS-JST071852 (配列番号 4) と IMS-JST044164 (配列番号 8)、IMS-JST071852 (配列番号 4) と IMS-JST063023 (配列番号 9)、IMS-JST071852 (配列番号 4) と IMS-JST042569 (配列番号 10)、IMS-JST071853 (配列番号 5) と IMS-JST074538 (配列番号 6)、IMS-JST071853 (配列番号 5) と IMS-JST079837 (配列番号 7)、IMS-JST071853 (配列番号 5) と IMS-JST044164 (配列番号 8)、IMS-JST071853 (配列番号 5) と IMS-JST063023 (配列番号 9)、IMS-JST071853 (配列番号 5) と IMS-JST042569 (配列番号 10) が挙げられる。

【0046】

本発明はまた、上述のタイピング法において用いるための試薬を含む、パクリタキセル療法による副作用の発症のリスクを予測するためのキットを提供する。試薬の例はプローブおよびプライマーである。本発明において同定された SNP 部位を含む遺伝子の領域を増幅するために用いられるプライマーは、好ましくは 15-30 塩基の長さであり、標的 SNP 部位を挟みかつ PCR 反応により所望の長さの増幅産物が生成されるよう設計される。インベーター法において用いられるプライマリープローブは、標的 SNP 部位から 5' 側の標的領域に特異的な配列を含み、さらに無関係なフラップ配列を含む。また、インベーター法において用いられるインベータープローブおよび MALDI-TOF/MS 法およびプライマーエクステンション法において用いられるプライマーは、標的 SNP 部位に対応する塩基を含まないが、SNP 部位に隣接する上流または下流の連続するヌクレオチド配列を含む。このようなプローブおよびプライマーの設計方法ならびに合成方法は当該技術分野においてよく知られている。

【0047】

以下に実施例により本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例により限定されるものではない。

【実施例 1】

【0048】

臨床サンプル

54 名の乳癌患者がパクリタキセルの術前化学療法の臨床試験に登録された。患者選択の条件について要約すると以下の通りである。1) 70 歳以下で病理組織学的に確認されたステージ II また IIIa の乳癌患者であること、2) 生理学的機能が適切であること (WBC > 4,000/mm³, 血小板カウント > 10,000/mm³, ヘモグロビンレベル > 10g/dl, 血清クレアチニン濃度 < 1.2 mg/dl, 血清総ビリルビンレベル < 1.5mg/dl, GOT/GPT < 60/70)。本治療の前に化学療法あるいは放射線療法が施行されていないことなどである。すなわち、パクリタキセルの術前化学療法の臨床試験が施行された 54 名は、臨床上また組織学的にもほぼ同一のステージであり、前症例とも化学療法の施行歴はなかった。患者は一週間に一回、80mg/m² のパクリタキセルを 1 時間をかけて点滴投与された。この投与を 12 週間継続した。これらの患者に最も高頻度に観察された副作用は顆粒球減少症であり、24 名の患者に認められた。

【0049】

副作用の定義

副作用の有無を確認するために各患者について毎週、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、血小板数が測定された。治療中に認められた副作用は米国 National Cancer Institute の Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) に基づいて評価されグレード分類が行われた。すべての臨床情報は SCTS21 システム (三井情報開発) を用いて匿名化され、以後の解析に用いられた。顆粒球減少症のグレードが NCI-CTC の分類にてグレード 1~4 までを示した患者を顆粒球減少症ありとし、グレード 0 の患者を顆粒球減少症なしとした。顆粒球減少症あり群となし群間で年齢、発症年齢間に相関は認められなかった。

【0050】

SNPs のタイピング

パクリタキセルの副作用と関連する遺伝子多型を検索するため、まず薬剤代謝関連遺伝

子ならびに薬理学的にバクリタキセルの作用機序に関連する遺伝子 298 個を選定した。次にこれら 298 個の遺伝子内に存在する SNPs を JSNP データベース上で検索を行い、2,727 個の SNPs を抽出した。

【0051】

本研究に用いた 54 症例についてインベーター法を用いて 298 遺伝子内にある 2,727 カ所の SNP のタイピングを行った。54 名の患者から末梢血 14 ml を採取した。末梢血から DNA を抽出する方法については標準的な方法を用いた。インベーター法によるタイピングを行う前に、標的とする SNP 部位の周辺約 500bp を PCR 法にて増幅した。その際 10ng の DNA をテンプレートとして用い、また 48 個のプライマーセットを用いたマルチプレックス PCR を行うことにより 48 カ所の DNA 断片を同時に増幅した。各 SNP 部位周辺を増幅するために用いたプライマーは JSNP データベースに記載されている配列に基づいて作製したものをを用いた。PCR の反応は以下の組成にて行った (6.7 mM $MgCl_2$, 67 mM TrisHCl, 16.6 mM NH_4SO_4 , 10mM 2-メルカプトエタノール, 6.7 μ M EDTA, 1.5mM dNTPs, 10% DMSO, 1 pmol の各プライマー, および 0.05U の Ex-Taq)。PCR の反応は最初のデネチャー反応は 94℃にて 2 分間行い、次に 94℃15 秒、60℃15 秒、72℃2 分の 3 ステップを 35 回繰り返した。Multimek96 反応ロボットを用いて PCR 産物を滅菌蒸留水にて希釈した後、TANGO 分注機を用いてインベーター反応用カードに分注した。次に Cartesian 分注機を用いてインベーター反応試薬をインベーター用反応カードに分注した。インベーター反応試薬には、アレル特異的オリゴヌクレオチド、Cleavase VII、そして FAM あるいは Redmond Red にてラベルされた FRET カセットが含まれている。これらの試薬は Third Wave 社より購入した。蛍光シグナルは TECAN Ultra にて検出し、ジェノタイプは FAM と Redmond Red の信号強度を 2 次元チャートに展開したものをを用いて決定した。

【0052】

ジェノタイピングを行った 2,727 SNPs のうち 2,123 SNPs については 80% 以上の症例においてタイピングの決定を行うことができた。ジェノタイプの正確性について検討を行うため、ランダムに選んだ 3 SNPs のタイピングデータを RFLP 法にて決定したジェノタイプと比較した所、調べた約 1,000 超のジェノタイプの全てで両タイピング法での結果が一致した。このことからタイピングの正確性は非常に高いものであることが示唆された。また、各 SNP について Hardy-Weinberg 平衡状態であるかどうかについてカイ 2 乗検定を用いて行ったら、調べた全ての SNPs が Hardy-Weinberg の平衡状態にあることが示唆された。

【0053】

副作用と関連する SNPs の検索および相関解析

まず最初に各遺伝子毎にハプロタイプブロック構造の構築を行った。同一遺伝子内にマップされた SNP について、任意の 2 つの SNP 間の連鎖不平衡係数 $|D'|$ をすべての組み合わせについて推定し、これを SNP の位置順に並べたマトリックスを作成した。もし 2 つの SNP 間の $|D'|$ が 0.9 以上であれば、2 遺伝子間にはハプロタイプブロックを形成しているものと推定した。その結果、タイピングを行った 298 遺伝子は 419 個のハプロタイプブロックに分割されることが分かった。

【0054】

次に副作用と相関する SNP を同定するために、2 段階のスクリーニングを行った。第一段階では、副作用がある群とない群間でのジェノタイプの分布について、2 x 3 分割表を用いた独立性の検定を行った。第一段階のスクリーニングにより顆粒球減少症と相関を認める 2 箇所のハプロタイプブロックが見いだされた。これらのハプロタイプブロックには各々 CYP2C8 遺伝子内にマップされた 5 個の SNP、ならびに BUB1b 遺伝子内にマップされた 5 個の SNP が含まれていた。p 値の最低値は CYP2C8 遺伝子を含むハプロタイプブロックでは 0.0065、BUB1b 遺伝子を含むハプロタイプブロックでは 0.010 であった。

【0055】

第一段階で同一ハプロタイプブロック内あるいは同一遺伝子内にある全ての SNP p 値が 0.05 以下であるものを第 2 段階の解析に用いた。第 2 段階では、優性遺伝モデルあるいは劣性遺伝モデルを想定した 2 x 2 分割表を作成し、独立性の検定を Fisher's exact test

を用いて行った。

【0056】

【表11】

CYP2C8 遺伝子と顆粒球減少症との関連

| 距離 (bp) | SNP | ジェノタイプ | 顆粒球減少症 | | P 値 | オッズ比 (95% c. i.) |
|---------|---------------|-----------|------------|------------|---------|---------------------|
| | | | (+) (n=24) | (-) (n=30) | | |
| 0 | IMS-JST111898 | G/G | 9 | 2 | 0.00774 | 8.13 (1.46-45.5) |
| | | A/G & A/A | 15 | 27 | | |
| 6,506 | IMS-JST105874 | T/T | 13 | 3 | 0.00351 | 7.63 (1.72-33.3) |
| | | C/T & C/C | 11 | 27 | | |
| 26,018 | IMS-JST082397 | G/G | 10 | 2 | 0.00271 | 10.0 (1.93-52.6) |
| | | A/G & A/A | 14 | 28 | | |
| 28,791 | IMS-JST071852 | T/T | 10 | 2 | 0.00202 | 10.7 (2.09-55.6) |
| | | A/T & A/A | 13 | 28 | | |
| 32,841 | IMS-JST071853 | G/G | 11 | 3 | 0.00351 | 7.63 (1.72-33.3) |
| | | A/G & A/A | 13 | 27 | | |

【0057】

【表12】

BUB1b 遺伝子と顆粒球減少症との相関

| 距離 (bp) | SNP | ジェノタイプ | 顆粒球減少症 | | P 値 | オッズ比 (95% c. i.) |
|---------|---------------|-----------|------------|------------|---------|---------------------|
| | | | (+) (n=24) | (-) (n=30) | | |
| 0 | IMS-JST074538 | A/A | 14 | 7 | 0.00627 | 5.11 (1.41-18.5) |
| | | A/G & G/G | 9 | 23 | | |
| 3,822 | IMS-JST079837 | T/T | 14 | 7 | 0.00627 | 5.11 (1.41-18.5) |
| | | G/T & G/G | 9 | 23 | | |
| 24,524 | IMS-JST044164 | C/C | 14 | 10 | 0.0187 | 3.85 (1.93-52.6) |
| | | C/T & T/T | 8 | 22 | | |
| 41,191 | IMS-JST063023 | C/C | 15 | 9 | 0.0111 | 4.36 (1.22-15.6) |
| | | C/T & T/T | 8 | 21 | | |
| 56,293 | IMS-JST042569 | T/T | 15 | 9 | 0.0169 | 3.89 (1.10-13.6) |
| | | C/T & C/C | 9 | 23 | | |

【0058】

第2段階の解析では2つの遺伝子にマップされたSNPのいずれも劣性遺伝形式を想定した場合より高い相関を認めた。最も高い相関を認めたSNPはCYP2C8遺伝子にマップされたSNPではIMS-JST071852($p = 0.0020$, オッズ比10.7)であり、BUB1b遺伝子にマップされたSNPではIMS-JST074538($p = 0.0062$, オッズ比 5.11)であった。CYP2C8遺伝子内に存在する3箇所の既知のcSNPが、本研究で利用したSNPsと関連があるかどうかを調べるため、これら3箇所のcSNPsのジェノタイプをRFLP法を用いて決定した。その結果一症例に1196A>G部位のヘテロ接合体を認めたのみで、他の症例では3箇所のcSNP全てでワイルドタイプであった。このことからCYP2C8遺伝子内に存在する3箇所のcSNPsの頻度は非常に低いものと推定された。また、BUB1b遺伝子内にマップされる一つのSNP(IMS-JST044164)における多型はアミノ酸置換(Arg->Gln)を伴うcSNPである。本研究ではワイルドタイプであるArgを持つアレルをホモに持つ割合が顆粒球減少症を示す患者で多いことが示された。

【0059】

ジェノタイプの組み合わせによる副作用出現確率の推定

CYP2C8遺伝子上の一個のSNPとBUB1b遺伝子上の一個のSNPのジェノタイプの組み合わせの各々について副作用出現の確率を計算した。計算にはロジスティック回帰モデルを用いた。その際4個の変数を用い、CYP2C8遺伝子上のSNPのアレルタイプ2種類と、BUB1b遺伝子上のSNPのアレルタイプ2種類を各々割り当てた。likelihood ratio testを用い最も適切なSNPの組み合わせを検索し、CYP2C8遺伝子上のIMS-JST071852とBUB1b遺伝子上のIMS-JST074538の組み合わせを選択した($p < 0.000532$)。この2つのSNPsのジェノタイプ別の副作用出現確率を表13に示す。アレル頻度はJSNPデータベースより得られた各々のSNPのアレル頻度より推定した。

【表 13】

各ジェノタイプによる顆粒球減少症発症の確率

| IMS-JST071852 (CYP2C8) | | IMS-JST074538 (BUB1B) | | |
|---------------------------|-----|-----------------------|---------------|--------------|
| | | A/A | A/G | G/G |
| IMS-JST071852 (CYP2C8) | T/T | 0.95 (12%)* | 0.61 (14%) | 0.82 (4%) |
| | A/T | 0.56 (19%) | 0.10 (23%) | 0.25 (7%) |
| | A/A | 0.65 (8%) | 0.14 (14%) | 0.32 (3%) |

* 括弧内の数字は日本人集団におけるアレル頻度予測を示す

【0060】

本発明により、2つの遺伝子の2個のSNPを用いれば顆粒球減少症発症の可能性を確実に予測することができることが示された。CYP2C8遺伝子上のIMS-JST071852とBUB1b遺伝子上のIMS-JST074538のジェノタイプの組み合わせがT/TとA/A、あるいはT/TとG/Gの組み合わせであれば顆粒球減少症を発症する確立が非常に高いと考えられる。JSNPデータベースにおいて公開されているアレル頻度をもとにすれば、これら2つのジェノタイプの組み合わせの日本人における頻度はそれぞれ0.12と0.04である。他方、顆粒球減少症を発症する確率が低いと考えられるジェノタイプの組み合わせは、A/TとA/G、あるいはA/AとA/Gの組み合わせであり、これらの組み合わせの日本人における頻度はそれぞれ0.23と0.14である

。以上の結果を組み合わせれば、日本人の約半数についてはバクリタキセル治療における顆粒球減少症の発症の有無を予測できることがわかる。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Cancer Institute; Japan Biological Information Consortium
 <120> Method and Kit for Prediction of Adverse Effect of Paclitaxel
 <130> PGK-0001
 <160> 20
 <170> PatentIn version 3.1
 <210> 1
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 1
 cagagcaagg rcaactgttt c 21
 <210> 2
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 2
 tacttttacc ytaaatatga g 21
 <210> 3
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 3
 gagatcagta raaacagtat g 21
 <210> 4
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 4
 gaaatttcca wagtgcctgt t 21
 <210> 5
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 5
 attgctatatt rtccatgatc a 21
 <210> 6
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 6
 ggagtcgtgt rcgtgccttg g 21
 <210> 7
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 7
 gactgacaca kaattattat t 21
 <210> 8

```

<211> 21
<212> DNA
<213> homo sapiens
<400> 8
aactggctgt ygtgcagtct c 21
<210> 9
<211> 21
<212> DNA
<213> homo sapiens
<400> 9
aggaaggcaa yctgtttttt t 21
<210> 10
<211> 21
<212> DNA
<213> homo sapiens
<400> 10
gggtacatct yagctatgcc a 21
<210> 11
<211> 121
<212> DNA
<213> homo sapiens
<400> 11
aaaaagaaag gtcaaggcag gagcctcagc tcaggagaag aaacaaggag cagagcaagg 60
rcaactgttt ctcaaggaat aaaattattg ctctaaagag agaaagtgaa cttattttat 120
c 121
<210> 12
<211> 121
<212> DNA
<213> homo sapiens
<400> 12
caaattcccc atgtgtccaa aaaaaatcag catggatgaa ataaacacat tacttttacc 60
ytaaatatga gttgagcatt acaggctagc taaacaatgt catttcgcat gtggttattc 120
a 121
<210> 13
<211> 121
<212> DNA
<213> homo sapiens
<400> 13
ttgatgacac aattttaaata gacatctttg tacaatggag gaggatgaca gagatcagta 60
raaacagtat ggtagtagca aaataagtaa agcactgatg aagtgtctgg atttcagcaa 120
a 121
<210> 14
<211> 121
<212> DNA
<213> homo sapiens
<400> 14
ctcatcccca aggtaagctt gtttctctta cactatattt ctgtacttct gaaatttcca 60
wagtgtggt ttggttccaa ccctctaaca acacaagatg agagaagtgc aaaactcata 120
c 121
<210> 15

```

<211> 121
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 15
 tttttggaat tagttggaat ttacatggca cctcctctgg ggctggtaga attgctattt 60
 rtccatgatac aagagcacca ctcttaacac ccatgtgctc caccctcaca atacaccatc 120
 a 121
 <210> 16
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 16
 tttgaaactt ggcggttagg ggtgtgggct tgagggtggcc ggtttgtag ggagtcgtgt 60
 rcgtgccttg gtcgcttctg tagctccgag ggcagggtgc ggaagaaagc ccaggcggtc 120
 t 121
 <210> 17
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 17
 taaatgtctt ccgaaagggtg attattcatg gtcttgggtt gaatatagtg gactgacaca 60
 kaattattat tattattata tgcctaagct tctttgtag ctgtttttca agtttatggc 120
 t 121
 <210> 18
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 18
 cccaccctta ataattccca ctcaaaaata tccaaaaacc acactcacat aactggctgt 60
 ygtgcagtct ctccacata tggagtgaag ctgggaagca cagcgggtac agctatcagt 120
 g 121
 <210> 19
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 19
 tcttcaagac aaccagataa attaataat attttgtgtt gtttgaaagc aggaaggcaa 60
 yctgtttttt taataacaaa aagcttcaaa catataaaag gtcattaaac aatttacaa 120
 t 121
 <210> 20
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 20
 aggccatgaa agaagctgca tagctgggtt ttaaaaaaaa aaggtacctt gggtacatct 60
 yagctatgcc aacaactccc tccagtgggtt aattttgaaa atgcacctgt aagacagagc 120
 a 121

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 パクリタキセル療法における顆粒球減少症の発症の可能性を予測するための方法ならびにキットを提供すること。

【解決手段】 被験者におけるパクリタキセル療法による顆粒球減少症の発症のリスクを予測する方法であって、被験者から単離された遺伝子について、CYP2C8 遺伝子中の 5 個の SNP (IMS-JST111898 (配列番号 1)、IMS-JST105874 (配列番号 2)、IMS-JST082397 (配列番号 3)、IMS-JST071852 (配列番号 4)、IMS-JST071853 (配列番号 5))、ならびに BUB1b 遺伝子中の 5 個の SNP (IMS-JST074538 (配列番号 6)、IMS-JST079837 (配列番号 7)、IMS-JST044164 (配列番号 8)、IMS-JST063023 (配列番号 9)、IMS-JST042569 (配列番号 10)) について遺伝子多型を同定することを含む方法、ならびにこの方法に用いられる試薬を含むキットが提供される。

【選択図】 なし

【書類名】 出願人名義変更届
【整理番号】 PGK-0001
【提出日】 平成16年10月 1日
【あて先】 特許庁長官殿
【事件の表示】
【出願番号】 特願2003-375369
【承継人】
【識別番号】 000173588
【氏名又は名称】 財団法人癌研究会
【承継人代理人】
【識別番号】 230104019
【弁護士】
【氏名又は名称】 大野 聖二
【電話番号】 03-5521-1530
【選任した代理人】
【識別番号】 100106840
【弁理士】
【氏名又は名称】 森田 耕司
【電話番号】 03-5521-1530
【選任した代理人】
【識別番号】 100105991
【弁理士】
【氏名又は名称】 田中 玲子
【電話番号】 03-5521-1530
【手数料の表示】
【予納台帳番号】 185396
【納付金額】 4,200円

認定・付加情報

| | |
|---------|----------------|
| 特許出願の番号 | 特願 2003-375369 |
| 受付番号 | 50401678956 |
| 書類名 | 出願人名義変更届 |
| 担当官 | 笹川 友子 9482 |
| 作成日 | 平成16年11月 4日 |

<認定情報・付加情報>

【承継人】

| | |
|----------|-------------------|
| 【識別番号】 | 000173588 |
| 【住所又は居所】 | 東京都豊島区上池袋1丁目37番1号 |
| 【氏名又は名称】 | 財団法人癌研究会 |

【承継人代理人】

申請人

| | |
|----------|------------------------------|
| 【識別番号】 | 230104019 |
| 【住所又は居所】 | 東京都千代田区霞が関3-2-5 霞が関ビル3 6階 |

| | |
|----------|-------|
| 【氏名又は名称】 | 大野 聖二 |
|----------|-------|

【選任した代理人】

| | |
|----------|--|
| 【識別番号】 | 100106840 |
| 【住所又は居所】 | 東京都千代田区霞ヶ関3-2-5 霞が関ビル3 6階 大野総合法律事務所 |

| | |
|----------|-------|
| 【氏名又は名称】 | 森田 耕司 |
|----------|-------|

【選任した代理人】

| | |
|----------|--|
| 【識別番号】 | 100105991 |
| 【住所又は居所】 | 東京都千代田区霞が関3-2-5 霞が関ビル3 6階 大野総合法律事務所 |

| | |
|----------|-------|
| 【氏名又は名称】 | 田中 玲子 |
|----------|-------|

特願 2003-375369

出願人履歴情報

識別番号

[000173588]

1. 変更年月日

1990年 8月 6日

[変更理由]

新規登録

住所

東京都豊島区上池袋1丁目37番1号

氏名

財団法人癌研究会

特願 2 0 0 3 - 3 7 5 3 6 9

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 0 0 5 3 5 3 0 1]

1. 変更年月日
[変更理由]
住 所
氏 名

2 0 0 0 年 1 1 月 2 0 日

新規登録

東京都中央区八丁堀二丁目 2 6 番 9 号 グランデビルディング
社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム